

PURIFICATION OF BAICALIN

特許公報番号 JP61050921 (A)

公報発行日 1986-03-13

発明者: TSUBOI MAKOTO; ANDO YUTAKA; MATSUI KENJI

出願人 ICHIMARU PHARCOS INC

分類:

—国際: A61K36/53; C07D311/40; A61K36/185; C07D311/00; (IPC1-7): A61K35/78

—欧州:

出版番号 JP19840173538 19840820

優先権主張番号: JP19840173538 19840820

他の公開

JP62032173 (B)

JP1423525 (C)

要約 JP 61050921 (A)

PURPOSE: To prepare baicalin useful as a remedy for allergic diseases, easily, in high yield and purity, by preparing crude baicalin from defatted OUGON (root of *Scutellaria baicalensis*) by conventional method, dissolving the crude baicalin in water, especially in boiling water, and leaving the solution for a whole day and night. **CONSTITUTION:** Defatted OUGON is extracted with water, and the filtrate is added with hydrochloric acid and left for a whole day and night. The produced residue is dissolved in methanol, purified by the gel-filtration with a polyamide, cellulose, etc., and concentrated under reduced pressure to obtain crude baicalin. The crude baicalin can be purified to the acicular crystal of highly pure baicalin by dissolving in water, especially in boiling water, and leaving for a whole day and night. Since the raw material is defatted in the pretreatment step, the purification can be facilitated and the yield can be improved. The repetition of the troublesome recrystallization processes is unnecessary because the crude baicalin is dissolved in water.

esp@cenet データベースから供給されたデータ — Worldwide

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭61-50921

⑤ Int.Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 昭和61年(1986)3月13日

A 61 K 35/78

7138-4C

審査請求 有 発明の数 2 (全6頁)

⑭ 発明の名称 バイカリンの精製化法

⑰ 特 願 昭59-173538

⑱ 出 願 昭59(1984)8月20日

⑲ 発 明 者 坪 井 誠 大垣市宮町1丁目25番地

⑲ 発 明 者 安 藤 裕 大垣市三塚町988番地

⑲ 発 明 者 松 井 健 次 岐阜市加納1667番地7号

⑲ 出 願 人 一丸ファルコス株式会 岐阜県山県郡高富町高富337番地
社

明細書の浄書(内容に変更なし)

明 細 書

1. 発明の名称

バイカリンの精製化法

2. 特許請求の範囲

(1)

脱脂処理された黄芩(オウゴン)を、水を用いて温浸した後、その濾液を分取し、濾液に対して、塩酸の濃度が1%程度になるように加え、一昼夜放置後、残渣物を分取し、残渣物をメタノール中に溶解させた溶液を、ポリアミド又は、セルロース、又はセファデックスLH-20(ファルマシャ ファイン ケミカル製)を用いて通過させた溶液を得て、この溶液を減圧下で濃縮を行うと、次第に固形状の粗製バイカリンが容器内面周囲に附着形成されてくるから、この粗製バイカリンを分取する。次に、粗製バイカリンを水、冷水、温水、沸騰水のいずれか、望ましくは、沸騰水中に溶解させた後、一昼夜程度放置させることにより、針状結晶の高純度バイカリンが析出するから、これを分取することを特徴とするバイカリンの精製

化法。

(2)

粗製バイカリンを、最終工程において、氷、冷水、温水、沸騰水のいずれか、望ましくは、沸騰水中に溶解させた後、一昼夜程度放置させることにより、針状結晶の高純度バイカリンを析出させ、これを分取することを特徴とする、バイカリンの精製化法。

3. 発明の詳細な説明

イ. 発明の目的

本発明は、98%以上の高純度なバイカリンを針状結晶として、高率的に精製する簡易な方法に関するものである。

<産業上の利用分野>

バイカリン又は、そのアグリコンであるバイカレインは、抗ヒスタミン作用を有し、医薬品(内服又は外用)あるいは化粧品への応用が注目されている。バイカリン又はバイカレインは、各種のアレルギー性疾患の予防と治療用として、とくに慢性的の皮膚炎、湿疹及びこれにともなうかゆみ防止剤としても応用が考えられているものである

が、薬用植物生薬で漢方の処方中に用いられる、黄芩（オウゴン）に含まれる、主成分の一つとして知られている。

<従来の技術>

バイカリンを得る方法として、その代表的な例は、次に示す方法が知られている。

(1) 黄芩を水抽出し、その浸出液に塩酸を加えて、沈殿させた後、メタノールで繰り返し、浸出させ、析出されたものを濾取し、エタノールで再結晶化させ、収量4%を得る。……（文献所在：稲垣 勲<植物化学>194～195ページ、医歯薬出版 昭和47年10月25日発行）

(2) 黄芩中に含まれるオウゴンなどのフラボノイド成分に関する分析研究において、黄芩から、メタノールを用いた還流抽出によって、エキスを得た後、その水溶部をポリアミドカラムに通導させた後、吸着物をメタノールで溶出させて、このメタノール溶液を濃縮して、析出するバイカリンを除去し、濾液からオウゴニンを得る。……（文献所在：富森 毅ら 薬学雑誌 V O I・102、

№4 388～391 1982年）

などがある。この他には、以下の方法が考えられている。

(3) 水抽出後、塩酸を加えて沈殿物を得る。

(4) メタノール、エタノールなどの有機溶媒を用いて抽出する方法。

(5) 上記(4)の方法で抽出したエキスを、水抽出する方法。

(6) 上記(5)で得られた粗成物を、メタノールにより再結晶して精製する方法。

(7) さらに最近では、黄芩の組織培養法により、そのカルスを得て、これより黄芩中のフラボン類の分離などが研究されている。

<発明が解決しようとする問題点>

本発明者らは、前記した、いずれの方法を採用しても、その結果、最終的に得られる高純度のバイカリンの収量としては、0.1～0.4%内外であることがわかった。例えば、前記(1)には、収量が4%を得るとされるも、これを分析すれば、今だ粗製バイカリンの状態にあり、純度的には70

～80%台にある。つまり、良く精製された、バイカリンを得るためには、前記(1)～(6)で示す公知な方法では、何度も繰り返し、再結晶化を続けることにより、かなりの純度のバイカリンが得られるも、そのためには、相当の熟練をもった技術が必要となる一方で、純度を高めるたびに収率は低下する欠点があった。

ロ. 発明の構成

<問題を解決するための手段>

本発明者らは、前記した(1)～(7)の公知技術をもとに、高率的に高純度なバイカリンを得る方法について、技術的に熟練を必要としない、簡易な精製化法について、改良を加える研究を開始した。その結果、以下に実施例で示す方法を採用することにより、98%～100%の高純度なバイカリンを得ることに成功した。しかも収量は、黄芩からスタートするとき、1～4%内外にあると共に、従来法のごとく、何回となく、メタノールやエタノール等々の有機溶媒を用いて、溶出させて再結晶化を繰り返す必要がないことである。

本発明による操作上又は工程上の特徴は、最終工程、すなわち粗製バイカリンを得た後、沸騰水で溶解させると、その後、経時的にバイカリンの針状結晶が多量に析出することを、発見したことが引金となり、本発明を完成するに至った。

本発明によるバイカリンの精製化法は、わずらわしい再結晶化を繰り返す必要をゼロとした点が、最大の特徴であり、これによって、医薬等への利用が、さらに期待出来る。

「実施例1」

黄芩の末又はキザミを、ベンゼン又は、シクロヘキサン又はエーテル又は、 α -ヘキサン、望ましくは、エーテル又は α -ヘキサンで浸漬するか、加熱還流して、黄芩中に含まれる脂溶成分を除去する。この操作を前もって行っておくと、最終的に得られるバイカリンの収量が1～3割高まること。さらに以下の抽出又は精製化操作性が向上する。

上述の工程で脱脂した黄芩は、完全に有機溶媒を除去し、乾燥させたもの1部に対し、水100部

を加え、80～100℃の加温下で温浸させた後、その液を得るに当っては、濾布、濾紙のいずれを用いてもよい。従来法では、黄芩を脱脂処理を行なわないで、抽出する方法が知られているが、この場合では、上述の濾過の回数が多くなるが、ここでは、あらかじめ、脱脂処理を行なっているために、濾過が非常にスムーズに行なわれ、濾液もきれいである。濾液の清澄な状態にない場合は、ここで再度、濾過を加える必要がある。清澄な濾液に対して、塩酸を加える。塩酸の用いる量としては、濾液中に1%前後を加えることが最善である。塩酸を加えた後は、よく混和してから一昼夜放置させ、次に濾紙濾過を行い、濾紙上の残渣物を、メタノールを用いて溶解して、この溶液を、ポリアミド又はセルロース、又はセファデックスLH-20（ファルマシヤ、ファインケミカル製、又はナイロン66、又はナイロン12のいずれかに通しれ後、得られた溶液を、エバポレーターにより減圧濃縮を行うと、次第に容器内の周囲に、粗製バイカリンが析出して附着してくる。析出した

粗製バイカリンを取り出して、これを氷、冷水、温水、沸騰水、のいずれか、望ましくは、沸騰水中に加えて溶解する。溶解後は0℃から室温下で一昼夜程度放置すると、黄色針状結晶が析出するので、これを分取する。このものは、純度が98%以上100%の高純度バイカリンであり、収量は、用いた黄芩にもよるが、最低、黄芩1kgから10～40g得られる。

上述した工程中で、メタノールに溶解する工程においては、バイカリン以外の不純物が多いほど、メタノール中に溶解させやすくなる傾向があるので、操作上は、この点を十分考慮することが必要である。又、メタノールの代替として、エタノール中に溶解してもよいが、最終的な、バイカリンの収量は、メタノールの方が優れている。

又、最終工程において、高純度バイカリンの析出において、氷、冷水、温水、沸騰水を用いたが、この他、水との組合わせとして、次の混液中に溶解しても、高純度バイカリンを析出させて、分取することが出来た。

水とエタノール、水とメタノール、水とアセトン、水とエーテル、水と酢酸エチル、水とn-ヘキサン、水とテトラヒドロフラン、水とシクロヘキサン、水とベンゼン、水とジオキサン、水とジクロルメタン、水とクロロホルム、水と四塩化炭素、水と二硫化炭素。

「実施例2」

黄芩の末又はキザミを実施例1と同様の操作により、脱脂処理を行った後、良く乾燥させた黄芩1部に、エタノール10部を加えて、加熱下（78℃附近）で抽出した液を濾過し、濾液を減圧濃縮してエタノールを除去させ、次に水を加えて、溶解させて水溶液（以下便宜上A液と言う）を得る。

又は、脱脂処理を行った後、良く乾燥させた黄芩1部に、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液又は、その他の弱塩基性水溶液、あるいは強塩基性の希釈されたうすい液を10部加えて、0～40℃で攪拌して、一昼夜放置後、濾過し、濾過残渣物を、エタノールに溶解した液（以下、便宜上B液と言

う）を得る。

又は、脱脂処理済の良く乾燥させた黄芩1部に、水200部を用いて、室温から100℃で抽出を行いその濾液を得て、濾液に対して、塩酸を加えて、濾液中の塩酸の濃度が1%程度になるようにして、良く混和させて一昼夜放置後に濾過して、その残渣物を得る。この残渣物を、エタノールとアセトンの混液中に溶解した液（以下、便宜上、C液と言う）を得る。

上述した工程で得られたA液、B液、C液は、以下の操作は、基本的には、先に示した実施例に準拠し、ポリアミド、セルロース、セファデックスLH20、ナイロン12、のいずれかに通してから、それぞれの液を減圧下で濃縮を行うことにより、次第に容器内周囲に析出する粗製バイカリンを分取し、乾燥後に、水中に溶解させた後、析出する黄色針状結晶バイカリンを得ることが出来る。ここで得られるバイカリンの純度は、少なくとも98%以上にある。

上述したA液、B液、C液におけるポリアミド

などを通した液についての、精製化工程について、さらに付け加えることとしては、次の様な操作を行うことが、良い場合もある。

まずA液の場合では、ポリアミドなどを通した液は、同量の水を加えてから減圧濃縮すると、粗製バイカリンの析出が良くなる。

一方、B液の場合では、ポリアミドなどを通した液を、ある程度まで濃縮してから、濃縮液に対して、2倍量の水を加えて、よく振とうした後、しばらくの間、放置すると粗製バイカリンが析出するので、これを分取して、次に、メタノールを用いて、再結晶化させた後、分取し、良く乾燥する。この乾燥した再結晶化したものを、沸騰水中に加えて溶解した後、0℃から常温で一昼夜放置する方法を用いても、黄色針状結晶の高純度バイカリンが得られる。この場合の純度は、少なくとも98%以上である。

C液については、ポリアミドなどに通した液は、ある程度まで濃縮させてから、この濃縮液に対して、2倍量程度の水を加え、良く振とうさせた

後、しばらくの間、放置すると、粗製バイカリン^が析出されるから、これを分取して、エタノールとアセトンの混液中に加えて、再結晶化した後、分取し、良く乾燥させてから、少量のエタノールに溶解させてから、この溶液に10～100倍の水を加え、一昼夜程度放置すると、黄色針状結晶の高純度バイカリンが得られる。

<ハ> 発明の効果

本発明は、実施例に示したごとく、粗製バイカリンを得たのち、最終工程において、氷、冷水、温水、沸騰^水中に溶解させることによって、高純度なバイカリンを得ることにより、従来のように、何回となく粗製バイカリンを、各種の有機溶媒をもちいて、操かえし行なわれてきた再結晶化法と異なり、特別の熟練を要せず 操作が容易である。

この方法を採用すれば、例えば、黄芩及び、その組織培養法によって得られたカルスや、あるいは今後予想される、合成法などにおいて得られたところの粗製バイカリンをもとに、高純度バイカリンを精製するに、役立つものである。すなわち

本発明による方法は、従来のいかなる方法で得られた粗製バイカリンでも、一度、水中に溶解させて、析出する針状結晶を分取すれば、その純度は、98%以上のバイカリンが得られる。

又、黄芩中から高純度のバイカリンを得る際の条件としては、実施例で示したごとく、前処理において脱脂工程を採用しているが、従来法では、脱脂しないで、いきなり各種の溶媒を用いて抽出されているような場合もあるが、このような場合では、実施例1～2における、ポリアミドなどを通す工程の前後のどちら^かにおいて、一度、ローヘキサン又はエーテルなどによる脱脂操作を加えると、以後の精製化工程が非常にスムーズとなると共に、収量も向上する。

本発明による実施例1又は2において、粗製バイカリンを得る際に、抽出液を濾過して、その残渣を各種の溶媒中に溶解させる操作があり、溶解後の溶液となし、これをポリアミドなどに通しているが、この残渣物の溶媒としては、メタノールを用いることが、最善である。つまり、収量

的に高純度なものが得られやすくなる。又、残渣物をメタノールに溶解するとき、溶解性が悪い程、残渣物中には多量のバイカリンが含まれている。したがって、残渣物を溶解するために用いる、メタノールの使用量が多くなる場合は、この量に比例して、高純度バイカリンの収量も多くなるために、従来法のように、目安がないままに、何回も再結晶化をはかっていた方法と異なり、生産工程において、あらかじめ、収量が把握できる点で、合理的である。

逆に、残渣物を得た時点で、メタノールに溶解させるとき、よく溶解する場合では、今だ黄芩からのエキスの段階であり、バイカリンの含量は、きわめて少ないものとなるので、工程上の管理が容易となる。

次に、本発明により得られた高純度バイカリンは、バイカレインの製造用原料としても最適である。すなわち、純度が高いために、バイカレインを得るには、以下に示す参考例1～3に準拠して行うことで、容易に高純度のバイカレインが得ら

れる。

「参考例」

実施例1～2で得られた高純度バイカリン1gに、(1)2N硫酸2ℓを加えるか、又は(2)2.5%塩酸2ℓを加えるか、又は(3)2Nアルコール性硫酸2ℓを加えるかして、(1)のとき2時間、(2)のとき2.5時間、(3)のとき、3時間程度の加熱還流をする。但し、上述の(3)を用いて還流した場合では、次に、氷水を、約20ℓ加えた後、析出するバイカレインを得る。これによって析出するバイカレインを、必要に応じ、ポリアミド、セルロース、セファデックスLH-20、ナイロン66、ナイロン12などのいずれかをを用いて、精製するか、メタノールやベンゼンなどにより、再結晶化して、バイカレインを得る。

「参考例2」

実施例1～2で得られた高純度バイカリン1gに、(4)1%水酸化カリウム水溶液又は1%水酸化ナトリウム水溶液を200ml加え、10分間加熱還流する。次に、塩酸又は硫酸を加えて酸性となし、

(文献所在)

- (1) ケミカル アンド ファーマケュティカル プレチン 8巻, 238ページ(1960年): (Chem. Pharm. Bull.)
- (2) 同誌 12巻, 664ページ(1964年)
- (3) ジャーナル オブ バイオロジカル ケミストリー 239巻, 59ページ(1964年): (J. Biol. Chem.)

以上、実施例1又は2で得られたバイカリン又は、参考例1～3で得られる、バイカレインについて、高速液体クロマトグラフィーによるチャートは、第1図、第2図に示すごとくであり、純度的には、バイカリン及びバイカレインの標準品(一丸ファルコス製、和光純薬工業製)を用いて、検量線を作製して、これより求めるとき、その純度は、98%～100%である。

析出するバイカレインを得るか、析出したバイカリンを分取し、酢酸エチル又はエーテルなどの溶媒中に溶解させてから、減圧濃縮してバイカレインを得る。

一方、上述の(4)のかわりに、(5)エタノール100mlを加え、5分間加熱還流した後、塩酸又は硫酸を加えて中和し、濾過して得られる濾液中の溶媒を留去し、残渣に水を加えて溶解し、塩酸又は硫酸を加えて酸性となす。これによって析出するバイカレインを得る。(4)や(5)を用いて、得られたバイカレインは、必要に応じ、参考例1に準拠して、ポリアミドなどに通すか、メタノールなどを用い、再結晶化すればよい。

「参考例3」

実施例1～2で得られた高純度バイカレインに、グルクロンダーゼを加え、加水分解させてバイカレインを得ることも出来るが、その際は、次に示す、文献を参考にして酵素処理を行うとよい。

(高速液体クロマト条件)

カラム: ODS系カラムLS-410

(4.6φ×250%)

溶離液:

<バイカリン(第1図)>

アセトニトリル: 水 = 32:68

0.005Mテトラ- η -アルミアンモニウムヨウダイド(PH=4.0, リン酸)

<バイカレイン(第2図)>

アセトニトリル: 水: 0.6%リン酸水溶液 = 43:27:30

溶離液流量: 1.0 ml/min

カラム温度: 40°C

検出器波長: 280nm

検出器感度: 0.16 AUFS

4. 図面の簡単な説明

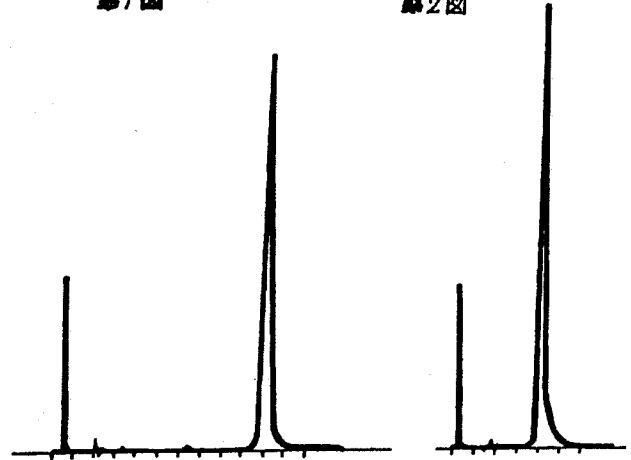
第1図は、実施例1又は2で得られた高純度バイカリンの高速液体クロマトグラフィーによる、チャート。

第2図は、参考例1～3で得られた、バイカレインの高速液体クロマトグラフィーによるチャート。

図面

第1図

第2図



特許出願人

一丸ファルコス株式会社

(代表者) 安 藤 裕



手続補正書 (方式)

昭和59年12月5日

紙の通り、浄書した明細書(内容に変更なし。)をもって差替える。

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

昭和59年特許願第 173538 号

2. 発明の名称

バイカリンの精製化法

3. 補正をする者 事件との関係

特許出願人

住所 岐阜県山県郡高富町高富337番地

名称 一丸ファルコス株式会社

(代表者) 安 藤 裕



4. 補正命令の日付

昭和59年11月7日

(発送日: 昭和59年11月27日)

5. 補正の対象

(1) 明細書の全文

6. 補正の内容

(1) 願書に最初に添付した明細書の全文を、別

方式
添付

